

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Basel
(Vorsteher: Prof. F. Koller)

**Vergleichende Untersuchungen
zwischen Resistenzprüfung in vitro
und Therapieeffekt**

**Ein Beitrag zur Bedeutung der Resistenzprüfung
in vitro für die antimikrobielle Therapie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der gesamten Heilkunde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von
HANS RUDOLF GREUB
von Lotzwil BE
und von Binningen BL

1965

1968
Druck Schwabe & Co.
Basel

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Basel
(Vorsteher: Prof. F. Koller)

**Vergleichende Untersuchungen
zwischen Resistenzprüfung in vitro
und Therapieeffekt**

**Ein Beitrag zur Bedeutung der Resistenzprüfung
in vitro für die antimikrobielle Therapie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der gesamten Heilkunde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von
HANS RUDOLF GREUB
von Lotzwil BE
und von Binningen BL

1966
Druck Schwabe & Co.
Basel

Genehmigt von der Medizinischen Fakultät auf Antrag
von Herrn Professor Dr. F. Koller und Herrn PD.
Dr. H. Reber.

Basel, den 6. Juli 1965.

Prof. Dr. M. Monnier
Dekan



Sonderdruck aus der
Schweizerischen Medizinischen Wochenschrift
96. Jahrgang 1966, Nr. 36, Seite 1161-1168

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Herrn P.D. Dr. H. REBER, auf dessen Veranlassung
die vorliegende Arbeit entstand, möchte ich an dieser
Stelle für seine Unterstützung und Förderung danken.

INHALT

Einführung und Problemstellung	7
Grundsätzliches zur Resistenzprüfung	8
Vorgehen und Methodik	9
1. In-vitro-Prüfungen	9
2. Auswertung des Therapieeffektes	10
3. Definitionen	12
4. Besondere Probleme	14
Die Untersuchungsergebnisse	14
1. Häufigkeitsverteilung aller Hemmhöfe	14
2. Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe mit therapeu- tisch verwendeten Antibiotica	16
3. Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe eines Erregers .	16
4. Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe eines Medika- ments	16
5. Häufigkeitsverteilung der bakteriologischen Thera- pieeffekte	16
Besprechung der Ergebnisse	21
1. Trefferwahrscheinlichkeit	21
2. Vergleich mit dem Sebas-Test	25
Schlußfolgerungen.....	27
Zusammenfassung	28
Literaturverzeichnis	29

Einführung und Problemstellung

Unter Resistenzprüfung versteht man die Prüfung von Mikroben in vitro auf die Empfindlichkeit gegenüber Antibiotica und Chemotherapeutica. Ihr Zweck besteht darin, eine Voraussage über die Wirksamkeit von Medikamenten zu machen, damit die Therapie von Anfang an rationell durchgeführt werden kann. Der Wert der Aussage für den Kliniker ist oft bestritten worden [4]. Die Unsicherheit über die Aussagekraft des Tests scheint vor allem auf fehlenden oder mangelhaften Vergleichen des In-vitro-Tests mit den Ergebnissen der Klinik zu beruhen. Meist erschöpfen sich die Untersuchungen darin, daß Hemmhöfe in vitro gemessen und daraus Wirksamkeit oder Unwirksamkeit des Medikaments abgeleitet wird, ohne daß eine

entsprechende klinische Nachprüfung stattfindet [6–9, 14, 15, 16, 18, 19]. Andererseits wird der Therapieeffekt nach der Antibioticabehandlung oft nicht mit exakten Kriterien beurteilt [5].

In der folgenden Arbeit wird versucht, die Ergebnisse der Resistenzprüfung mit dem Therapieeffekt zu vergleichen. Es wird geprüft, inwieweit auf Grund der Resistenzprüfung das therapeutische Ergebnis vorausgesagt werden kann.

Grundsätzliches zur Resistenzprüfung

Zwei Arten von Verfahren stehen prinzipiell zur Verfügung: der Verdünnungstest und der Agardiffusionstest. Beide verwenden in der Regel aus Patientenmaterial gezüchtete Reinkulturen; nur ausnahmsweise wird die Resistenzprüfung direkt mit dem Untersuchungsmaterial angesetzt, wenn die Wirkung der Antibiotica auf die Gesamtfloora untersucht werden soll.

Während der Verdünnungstest vor allem zur Prüfung von Tuberculostatica und für wissenschaftliche Fragestellungen angewandt wird, hat sich für die Routineuntersuchung in der Klinik der Agardiffusionstest durchgesetzt, besonders in Form des Blättchentests. Dabei wird ein mit Antibioticum getränktes Blättchen auf die Oberfläche einer gleichmäßig beimpften Agarplatte gelegt. Diese wird anschließend bebrütet. Vom Blättchen aus diffundiert das Antibioticum in die Peripherie. Der Keim kann erst von derjenigen Stelle an wachsen, wo die minimale Hemmkonzentration unterschritten ist. Infolge der Diffusion nimmt die Konzentration des Antibioticums radiär vom Zentrum gegen die Peripherie ab. Der Durchmesser des wachstumsfreien Hofes (Hemmhof) ist deshalb ein Maß für die Empfindlichkeit des untersuchten Keims. Je größer der Hemmhof, desto empfindlicher der Keim. Resistente Erreger wachsen bis an den Rand oder sogar unter das Blättchen.

Das umgekehrte Vorgehen wird bei der Titration eines Antibioticums gewählt: Dort werden bei gleichem Keim verschiedene Antibioticakonzentrationen aufgetragen, während in der Resistenzprüfung die aufgetragene Antibioticakonzentration konstant bleibt und verschiedene Keime geprüft werden.

Voraussetzung für die Verwendung der Resistenzprüfung in der Klinik ist ihre Reproduzierbarkeit. Deshalb sind gewisse Standardisierungen nötig. Die Variablen, die die Hemmhöfe beeinflussen können, sind vor allem Nährboden, Gehalt des Blättchens an Medikament, Papierdicke und -typ, Mikroorganismus und zeitliche Faktoren. Zusammenfassend kann gesagt werden: Falls

- derselbe Nährboden
- bei hoher Konzentration des Medikaments im Blättchen
- bei bekanntem Molekulargewicht des Medikaments verwendet wird, sind geringfügige Änderungen von
- Inoculummenge (Bakterium),
- Wachstumsphase (Alter der Bakterien),
- Wachstumsrate (Generationszeit der Bakterien),
- Blättchengehalt innerhalb hoher Konzentration und
- zeitlichem Faktor (Zeit zwischen Auflegen des Blättchens und Inoculum)

von geringem Einfluß auf die Hemmhöfe. Damit ist ein hoher Grad von Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu erwarten [2, 10].

Diese Arbeit setzt einen experimentell verglichenen, standardisierten Test voraus.

Vorgehen und Methodik

1. In-vitro-Prüfungen

Die Sensibilitätsprüfungen sind im Bakteriologischen Laboratorium der Medizinischen und der Chirurgischen Universitätskliniken, Basel (Leiter der Laboratorien: PD. Dr. H. REBER) nach einer standardisierten Technik durchgeführt worden.

Der reingezüchtete Erreger wurde aus einer 4stündigen Vorkultur in Peptonbouillon auf Blutagar überimpft. Petri-Schalen und Agarmenge (Schichtdicke) sind genormt. Danach wurde das Antibioticablättchen² aufgelegt und die Schale bei 37° C bebrütet. Nach 14 Std. wurden die Hemmhöfe in mm ausgemessen. Gleichzeitig wurde eine Beurteilung nach den Vorschlägen des Herstellers vorgenommen (Tab. 1).

Tabelle 1 Beurteilung des Agardiffusionstests nach den Vorschriften der Herstellerfirma

Durchmesser des Hemmungshofes in mm*	Die Bakterien sind	Anwendungsmöglichkeit des entsprechenden Medikaments
> 24 (23)	voll empfindlich = +++	in üblicher Dosierung einsetzbar
19-24 (20-23)	noch gut empfindlich = ++	noch gut einsatzfähig
13-19 (13-19)	schwach empfindlich = +	in hohen Dosen nur lokal anwendbar
< 13	resistent	keine Medikation möglich

* Die Zahlen in Klammern wurden vom Bürgerspital Basel verwendet.

2. Auswertung des Therapieeffektes

Die Beurteilung des Therapieeffektes erfolgte retrospektiv. Dazu wurden die Krankengeschichten des Jahrgangs 1962 der Medizinischen Universitätsklinik Basel verwendet. In 190 Bänden fanden sich 3700 Krankengeschichten; davon enthielten 1001 eine Sensibilitätsprüfung, 463 Fälle waren verwertbar, 538 nicht beurteilbar.

Zur Auswertung der Krankengeschichte wurde ein *Informationsblatt* mit folgenden 24 genau definierten Merkmalen geschaffen:

² Sebas-Test der Firma Wild & Co., Basel [20].

1. Fallnummer 1-463
2. Archivnummer der Krankengeschichte
3. Name des Patienten
4. Jahrgang
5. Alter
6. Geschlecht
7. Grundkrankheit nach dem Diagnosenregister des
Bürgerspitals Basel 1964
8. Bakterielle Affektion
9. Intensitätsgrad: akut, akuter Schub eines chronischen
Infektes, subakut, chronisch
10. Untersuchungsmaterial: Urin, Sputum, Eiter, Varia
11. Erreger (Es fanden sich 25 verschiedene Erregerspecies)
12. Hemmhof in mm
13. Zeitliche Aufeinanderfolge zwischen Sensibilitätsprüfung
und Therapie
14. Sensibilitätsprüfung ohne Indikation
15. Ohne Sensibilitätsprüfung behandelte Affektion
16. Medikamente des Antibiogramms
17. Tagesdosis in g
18. Anzahl Tage Behandlung
19. Gesamtdosis
20. Therapieerfolg (siehe Definition)
21. Bakteriologische Schlußuntersuchung
22. Nicht beurteilbar
23. Therapiewechsel
24. Vorbehandelt mit demselben oder einem anderen
Medikament.

Dieses Informationsblatt wurde danach auf eine speziell vor-
gedruckte *Handlochkarte* aufgeklebt und diese gelocht. Es
wurde darauf geachtet, daß am Anfang möglichst viele Merk-
male aus der Krankengeschichte in das Informationsblatt auf-
genommen wurden. Nicht auswertbare Daten können nach-
träglich bequem fallen gelassen werden. Angaben wie Alter,
Geschlecht, Intensitätsgrad des Infektes, Untersuchungs-
material usw., dienen dazu, eine relative Heterogenität der
Stichproben auszuschalten.

Jedes Faktum eines Merkmals wurde als Zahl definiert. So
bekam das Merkmal «Intensitätsgrad» das Feld 3 der Hand-
lochkarte; das Faktum «subakut» wurde mit der Zahl 4 be-
zeichnet, das Faktum «chronisch» mit der Zahl 1. In der Hand-
lochkarte wurde für jedes auswertbare Merkmal ein Feld be-
stimmter Größe reserviert.

Nachdem die Handlochkarten zur Auswertung bereitlagen,
wurde vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumen-

tation in Liestal³ das großzügige Angebot gemacht, das Datenmaterial mit der elektronischen Rechenmaschine auszuwerten. Obwohl sich die geringe Anzahl der Fälle nicht für die elektronische Datenverarbeitung eignet, gab unsere Fragestellung dazu Anlaß, grundsätzliche Fragen der medizinischen Programmieretechnik zu lösen und allgemein verwertbare Programme zu schaffen.

Für die Übertragung des Datenmaterials auf elektronische Lochkarten wurde der Inhalt jedes Informationsblatts auf einen fünfseitigen Fragebogen übertragen, der von einem Mathematiker⁴ aufgestellt worden war. Er enthielt viel mehr Merkmale als unser Informationsbogen, da er in so erweiterter Form angelegt war, daß noch anderes Datenmaterial darin aufgenommen werden konnte. Vom Fragebogen aus wurden die Informationen auf Lochkarten für die elektronische Verarbeitung gelocht.

Übertragungsfehler konnten an Hand beliebiger Stichproben, die uns einerseits die elektronische Rechenmaschine und andererseits die von Hand ausgezählten, gelochten Randlochkarten lieferten, ausgemerzt werden. So wurden unter anderem die Informationen sämtlicher Fälle von der elektronischen Rechenmaschine ab Lochkarte reproduziert und mit den Handlochkarten verglichen. Die wenigen Übertragungsfehler wurden korrigiert.

3. Definitionen

Für die *Beurteilung des Therapieeffektes* stehen klinische und bakteriologische Kriterien zur Verfügung [11]. Die Schwierigkeit der klinischen Beurteilung besteht erstens darin, daß ein Übergang zum symptomlosen Zustand eintreten kann (sogenannte Keimträger), zweitens ist die Abgrenzung der Selbstheilung schwierig.

Um den klinischen Erfolg zu beurteilen, wäre eine Kontrollgruppe ohne Antibioticatherapie nötig. Der Vorteil der Antibioticatherapie liegt im wesentlichen nicht nur darin, daß eine Heilung erfolgt, sondern auch, daß die Heilungszeit abgekürzt wird. Dieser zeitliche Faktor aber kann im einzelnen Fall nicht berücksichtigt werden. Demgegenüber erfassen die bakteriologischen Kriterien das Therapieergebnis des Infektes als solches

³ Es sei an dieser Stelle Herrn Dr. FRIESEWINKEL und Herrn SINGEISEN für die elektronische Auswertung des Datenmaterials bestens gedankt.

⁴ Wir sind Dipl.Ing. G. HOYER für die intensive Zusammenarbeit und den erheblichen Arbeitsaufwand zu großem Dank verpflichtet.

[14]. Deshalb wird vor allem der bakteriologische Therapieeffekt berücksichtigt, dann der klinische, darauf beide zusammen.

a) Der *bakteriologische Therapieeffekt* wurde unterteilt in drei Kategorien:

B1 = bakteriologische Heilung: Bei der bakteriologischen Nachkontrolle ist der Erreger des ersten Antibiogramms verschwunden.

B2 = Florawechsel: Bei der bakteriologischen Nachkontrolle erscheint ein neuer, im ersten Antibiogramm nicht vorhandener Erreger.

B3 = bakteriologischer Versager: Der im ersten Antibiogramm vorkommende Erreger findet sich auch im zweiten Antibiogramm.

b) Der *klinische Therapieeffekt* ohne bakteriologischen Befund wurde ebenfalls in drei Kategorien unterteilt:

A1 = geheilt: Normalisierung aller infektionsbedingten klinischen Symptome und Laboratoriumsbefunde ohne Rücksicht auf das eventuelle Weiterbestehen der Krankheitserreger.

A2 = klinische Besserung: Normalisierung der subjektiven Beschwerden und der Allgemeinerscheinungen (Temperatur und Leukocyten) bei Weiterbestehen lokaler Befunde (Pyurie) [11].

A3 = klinischer Versager: keine Normalisierung des klinischen Zustands; eventueller Übergang in Chronizität.

c) *Klinischer und bakteriologischer Therapieeffekt* zusammen ergaben zwei Kategorien:

C1 = A1 + B1 = bakteriologische + klinische Heilung: Es verschwinden die Infektionserreger bei gleichzeitiger Normalisierung der infektionsbedingten klinischen Symptome und Laborbefunde.

C2 = A3 + B3 = klinischer + bakteriologischer Versager: Erreger, klinische Symptome und Laborbefunde sind unverändert geblieben.

Nicht beurteilbar waren Fälle, die weniger als 4 Tage behandelt oder bei denen die Behandlung unterbrochen worden war. Bei chronischen Infekten, die oft nicht auf die Antibiotikatherapie ansprechen und bei welchen infolgedessen das Antibioticum während der Behandlung eventuell mehrmals wechselte, wurde jede Behandlungsphase für sich beurteilt.

Die obigen Kriterien gelten für alle Infekte, hingegen sind gewisse Besonderheiten zu berücksichtigen.

4. Besondere Probleme

Kommen mehrere Erreger gleichzeitig vor, so bilden sie eine sogenannte *Mischflora*. Die Mischflora kann entweder als Ganzes oder mit ihren einzelnen Komponenten beurteilt werden. An sich ist für die Feststellung eines therapeutischen Erfolgs die Wirkung eines Medikaments auf die Gesamtflora maßgebend. Da die verschiedenen Antibiotica jeweils nur ein begrenztes Wirkungsspektrum aufweisen, läßt sich meist nicht vermeiden, daß nur ein Teil der Erregerstämme antibiotisch beeinflußt wird. Die Mischflora enthält damit sowohl gegenüber dem therapeutisch verwendeten Antibioticum empfindliche als auch ihm gegenüber resistente Erreger. Um über das Verhalten der Erreger in vitro und den Therapieeffekt eine Aussage machen zu können, muß deshalb jede einzelne Erregerspecies gesondert betrachtet werden. Jede Mischflora wurde deshalb daraufhin geprüft, ob die einzelnen Erreger entsprechend ihrem Verhalten in vitro therapeutisch beeinflußt wurden oder nicht.

Versiegte das Untersuchungsmaterial im Verlauf der Therapie (z. B. Sputum bei akuter Bronchitis oder Pneumonie), so wurde nur klinisch beurteilt. Affektionen, die außerdem einen chirurgischen Eingriff erforderten (z. B. Abszesse), wurden nicht beurteilt.

Behandlung trotz negativer Resistenzprüfung: Üblicherweise wählt der behandelnde Arzt das Antibioticum, welches auf Grund der Resistenzprüfung eine Wirksamkeit verspricht. Dadurch kommt es zu einer einseitigen Auswahl der Fälle und damit zu einer Verfälschung des Vergleichs. Es bedürfte demnach einer Gruppe von Infekten, die mit demjenigen Antibioticum behandelt werden, gegen welches die Keime in vitro resistent waren. Eine solche Versuchsanordnung ist allerdings aus ethischen Gründen nicht annehmbar. Da man in schweren Fällen jedoch oft gezwungen ist, mit einer Therapie zu beginnen, bevor das Resultat der Resistenzprüfung eingetroffen ist, ergibt sich eine Gruppe von Infekten, welche trotz in vitro resistenten Keimen behandelt wurden. Darauf ist zurückzuführen, daß relativ viele Erreger mit demjenigen Antibioticum behandelt wurden, gegen das sie sich in der Resistenzprüfung als unempfindlich erwiesen.

Untersuchungsergebnisse

1. *Häufigkeitsverteilung aller Hemmhöfe* (Abb. 1). – Gruppiert man die Hemmhöfe aller geprüften Erreger nach Häufigkeit ohne Rücksicht auf die geprüften

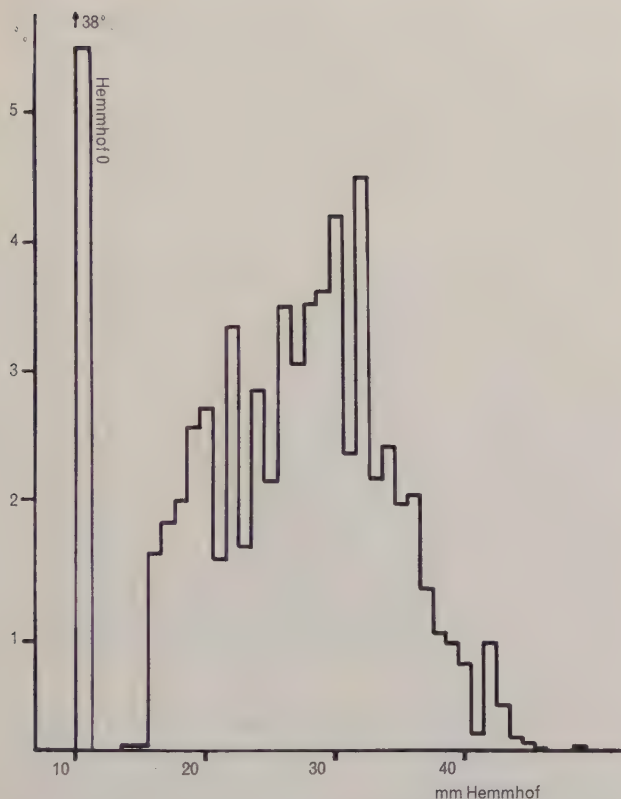


Abb. 1. Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe aller geprüften Erreger und aller geprüften Antibiotica (100%=6350).

Antibiotica (Sulfonamide, Penicillin, Streptomycin, Tetrazyklin, Chloramphenicol, Erythromycin, Oleandomycin), so weisen von den 6350 überhaupt gemessenen Hemmhöfen 38,0% unter 13 mm Durchmesser auf. Die restlichen Hemmhöfe bilden eine unsymmetrische Glockenkurve mit einem Maximum zwischen 30 und 33 mm Durchmesser.

Die Methodik der Ablesung der Hemmhöfe kommt in der Kurve darin zum Ausdruck, daß erstens die

Werte von 10, 20 und 30 mm in der Ablesung bevorzugt werden zuungunsten der Nachbarwerte, daß zweitens die geraden Werte lieber abgelesen werden als die ungeraden und daß drittens unter Berücksichtigung der Blättchendurchmesser von 9 mm die Hemmhofdurchmesser bis zu 13 mm als 0 abgelesen werden.

2. *Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe mit therapeutisch verwendeten Antibiotica.* – Von Wichtigkeit sind nur die Antibiotogramme mit denjenigen Antibiotica, die nachher in der Behandlung verwendet wurden: Sulfonamide in 20% der Fälle, Penicillin in 10%, Streptomycin in 5%, Tetrazyklin in 18%, Chloramphenicol in 44%, Erythromycin in 2% und Oleandomycin in 1%. 34% aller Hemmhöfe haben weniger als 13 mm Durchmesser und werden als 0 abgelesen. Das Maximum der ebenfalls unsymmetrischen Glockenkurve befindet sich bei 28 mm Hemmhofdurchmesser. Der Vergleich mit der Verteilung der Hemmhöfe in Abb. 1 ergibt keine ins Auge fallenden Unterschiede. Wiederum lassen sich dieselben Ablesebesonderheiten feststellen.

3. *Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe eines Erregers* (Abb. 2). – Als Beispiel dient *Escherichia coli*, wobei nur die Antibiotogramme mit dem therapeutisch verwendeten Antibioticum herangezogen wurden. Die Zahl der Hemmhöfe mit 0 mm Durchmesser nimmt gegenüber der Häufigkeitsverteilung aller Hemmhöfe (s. Abb. 1) um ca. 20% zu (55,5% statt 34%). Die übrige Verteilung zeigt keine Besonderheiten.

4. *Die Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe eines Medikaments* (Abb. 2). – Prüft man die Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe von Chloramphenicol, so zeigt sich bei 28 mm ein Maximum. 42,5% aller Hemmhöfe sind 0.

5. *Häufigkeitsverteilung der bakteriologischen Therapieeffekte.* – Die Häufigkeitsverteilung der bakteriologischen Therapieeffekte, geordnet nach Hemmhofgröße,

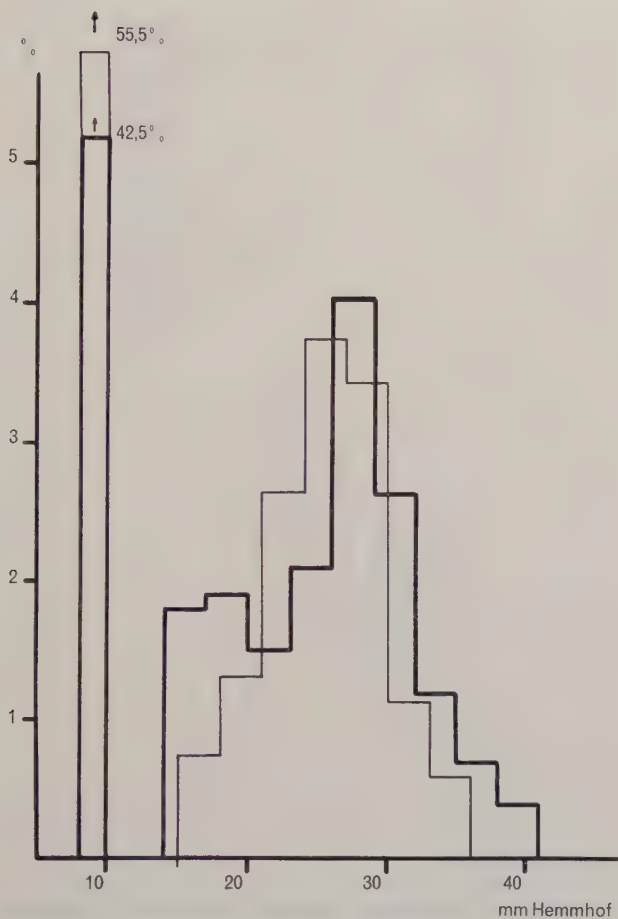


Abb. 2. Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe. Fein gezeichnete Kurve: alle geprüften Antibiotica gegen *Escherichia coli* (100% = 350). Fett gezeichnete Kurve: alle geprüften Erreger gegenüber Chloramphenicol (100% = 398).

zeigt deutlich die allgemeine Tendenz, daß bei kleinen Hemmhöfen die Versager gegenüber den Geheilten überwiegen, bei großen Hemmhöfen die Geheilten über die Versager (Abb. 3).

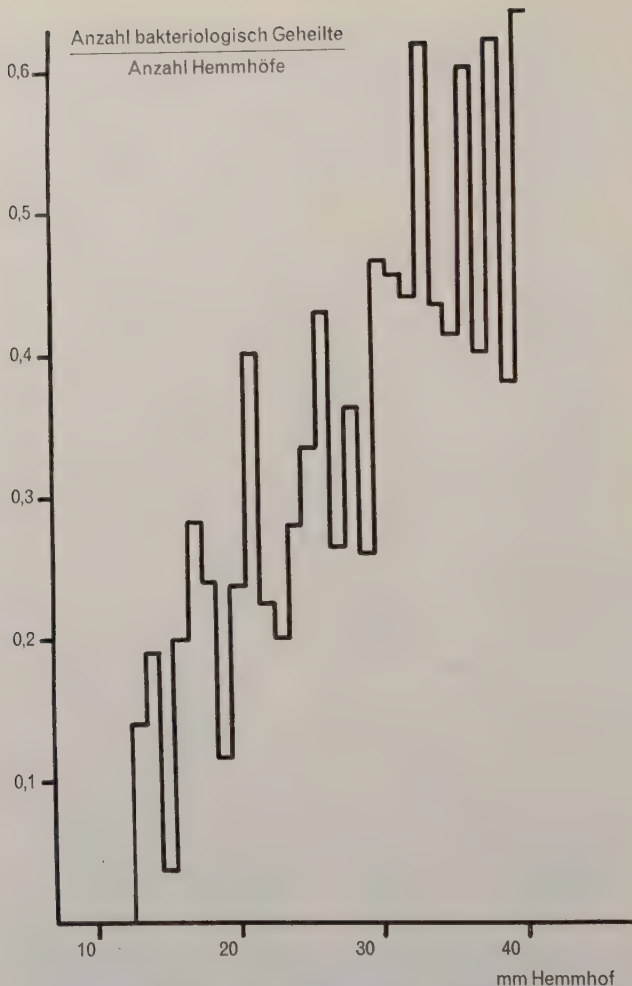


Abb. 3. Häufigkeit der bakteriologisch Geheilten, geordnet nach Hemmhofgröße.

Als geeignetstes Darstellungsmittel wurde der *Quotient* aus den bakteriologisch Geheilten und den bakteriologischen Versagern gewählt und in Abhängigkeit von der Hemmhofgröße dargestellt (Abb. 4). Sind für

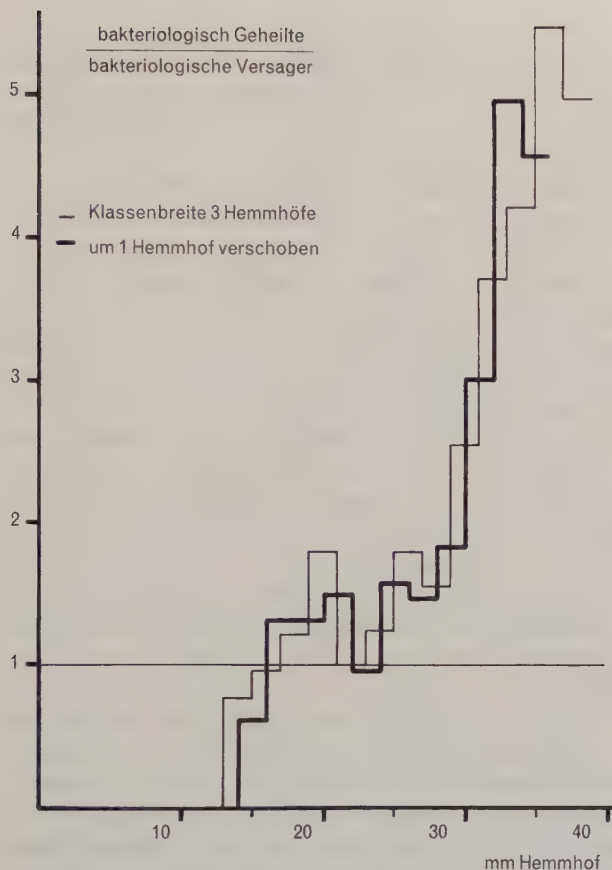


Abb. 4. Das Verhältnis der Häufigkeiten der bakteriologisch Geheilten zu den bakteriologischen Versagern in Abhängigkeit von der Hemmhofgröße.

denselben Hemmhof gleich viele bakteriologisch Geheilte wie Versager gefunden worden, so ergibt der Quotient aus beiden 1; wurden mehr Geheilte gefunden als Versager, so ergibt er mehr als 1; sind mehr Versager gefunden worden als Geheilte, weniger als 1. In der graphischen Darstellung sind also über der 1-Linie mehr Geheilte als Versager, unter der 1-Linie

mehr Versager als Geheilte zu finden. Um die 1-Linie herum etwa von beiden gleich viele. Der Übergang liegt irgendwo in der Nähe der 1-Linie, und zwar dort, wo mehr Versager zu erwarten sind als Geheilte bzw. gleichviel Geheilte wie Versager.

Um sowohl Zufallseinflüsse als auch aus der Meßmethode bedingte systematische Fehler auszugleichen, wurden die Häufigkeiten benachbarter Hemmhöfe zu Klassen gleicher Breite zusammengefaßt und ihre Häufigkeiten innerhalb jeder Klasse gemittelt. Als geeignetste Klassenbreite wurde durch Probieren sowohl die Klasse von 3 Hemmhöfen (Abb. 4) als auch die von 4 Hemmhöfen gewählt. Damit scheinen die mutmaßlichen Zufallsschwankungen am ehesten ausgeglichen zu werden, ohne funktionelle Einflüsse zu verwischen. Ein Vergleich der Diagramme zeigt, daß die Wahl der Klassenbreite auf den Verlauf der Säulendiagramme nur geringen Einfluß hat. Überdies kommt das darin zum Ausdruck, daß in den Diagrammen die Verschiebung der Klassengrenzen um jeweils einen Hemmhof auch keinen offensichtlichen Einfluß hat (Abb. 4).

Zwischen 21 und 23 mm bedingt das abrupte Absinken des Quotienten Geheilte/Versager eine Zäsur. Diese veranlaßte uns, die Hypothese zu überprüfen, ob der bakteriologische Therapieerfolg im Intervall von 16–29 mm unabhängig ist vom Hemmhofdurchmesser innerhalb der Untergruppen 16–20 mm, 21 bis 23 mm und 24–29 mm, wenn dieses Intervall von 16 bis 29 mm in die Klassen 16–20, 21–23 und 24–29 mm unterteilt wird. Im 6-Felder-Test ergab sich ein χ^2 von 0,5 bei einem Freiheitsgrad von 2, womit die Hypothese nicht abgelehnt werden kann.

Damit ist gezeigt, daß die Verteilung der bakteriologisch Geheilten über die drei beschriebenen Hemmhofgruppen unabhängig ist von der Verteilung der bakteriologischen Versager. Die Zäsur kann also übersehen werden.

Selbstverständlich muß erwähnt werden, daß die Höhe einer einzelnen Säule des Diagramms jeweils aus den Rohhäufigkeiten gebildet werden muß, keinesfalls aber aus den Quotienten.

Der Vergleich der *klinischen* Therapieeffekte mit den Hemmhofdurchmessern bestätigt die bisherigen Ergebnisse, weshalb auf ihre weitere Darstellung verzichtet werden kann.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Resistenzprüfungen je nach Hemmhofdurchmesser in drei Gruppen – 0–16 mm (Gruppe I), 17–29 mm (Gruppe II) und 30–n mm (Gruppe III) – unterteilt werden können, innerhalb deren verschiedene Voraussagen für den Therapieeffekt möglich sind.

Besprechung der Ergebnisse

1. Trefferwahrscheinlichkeit

Die relativ große Häufigkeit der geheilten Fälle in Gruppe I und der Therapieversager in Gruppe II und III belasten den Aussagewert der Resistenzprüfung ganz erheblich. Die rohen Zahlen lassen vermuten, daß in Gruppe I von 10 als resistent betrachteten Erregern 4 therapeutisch angegangen werden können! Bei der Gruppe der als hochempfindlich geltenden Erreger (III: 30–n) werden von 5 nur 4 geheilt (Tab. 2). Dies veranlaßte uns nun, diese *Versager der Resistenzprüfung* zu überprüfen (Geheilte der Gruppe I und Therapieversager der Gruppe III). Die Untersuchung ergab folgendes:

Von 74 Geheilten der Gruppe I erwiesen sich 63 (85%) der als geheilt aufgefaßten Fälle bei näherer Untersuchung als Träger einer Mischflora, bei welchen die untersuchte Erregerspecies im Verlauf der Therapie verschwunden und in der zweiten Sensibilitätsprüfung nicht mehr nachzuweisen war. Nun gelten jedoch Fälle, bei denen die Erreger in der ersten Sensibilitätsprüfung vorkommen, nicht mehr aber in der zweiten, defini-

Tabelle 2 Subtraktion der Fälle, die der Resistenzprüfung nicht zur Last gelegt werden dürfen
(Erklärung s. Text)

Gruppe	Hemmhof (mm)	B1	B3	%B3	Differenz		B1'	B3'	%B1'	%B3'
					B1-B1'	B3-B3'				
I	0-16	74	100	57,5	63		11	100	9,9	90,1
II	17-29	146	101	40,5	67		146	34	81,1	18,9
III	30-n	105	25	19,2	23		105	2	98,1	1,9

B1 = Geheilte, B3 — Versager, B1' = korrigierte Geheilte, B3' = korrigierte Versager.

tionsgemäß als Geheilte (s. S. 12), auch wenn die übrigen Komponenten der Mischflora weiterbestehen.

In 27 von den 63 Fällen (43%) trat an ihre Stelle *Escherichia coli*, in 15 Fällen (24%) ein *Proteus vulgaris*, in 11 Fällen (17%) ein *Proteus rettgeri* und in 10 Fällen (16%) ein *Staphylococcus aureus* (koagulase-positiv). Bei den restlichen 11 Fällen handelte es sich um chronische Infekte der Atem- und Harnwege, welche als Nebebefund festgestellt wurden und mit der Besserung der Grundkrankheit ebenfalls verschwanden.

Demnach darf für die Praxis ausgesagt werden, daß Infektionserreger, welche im Antibiotogramm Hemmhöfe zwischen 0 und 16 mm aufwiesen, auf das geprüfte Antibioticum nicht ansprachen, sofern der geprüfte Erreger tatsächlich für den Infekt verantwortlich war.

Von den 25 *Versagern der Gruppe III* mit Hemmhöfen über 29 mm war in der zweiten Resistenzprüfung der Hemmhof bei 23 Fällen derart verkleinert, daß die Ausbildung einer bakteriellen Resistenz vorlag; in mehr als der Hälfte davon ging der Hemmhof auf 0–16 mm zurück. Zwei Beispiele:

Bei einem 64jährigen Mann mit recidivierenden Lungenembolien, Mitralstenose, Vorhofflimmern und einer leichten Prostatahypertrophie wird ein chronischer Harnwegsinfekt mit täglich 0,5 g Sulfonamid behandelt. Der Erreger (*Escherichia coli*) zeigt im ersten Antibiotogramm bei Sulfonamiden einen Hemmhof von 30 mm Durchmesser. Nach 10tägiger Behandlung hat der Hemmhof im zweiten Antibiotogramm einen Durchmesser von 0 mm. Der Patient war mit 17 g Tetrazyklin vorbehandelt worden, was darin zum Ausdruck kommt, daß der Hemmhofdurchmesser für Tetrazyklin im ersten Antibiotogramm 0 mm betrug.

Ein anderer Patient, ein 69jähriger Mann mit Lebercirrhose und Korsakow-Syndrom, hat eine akute Bronchopneumonie, wobei aus dem Sputum ein *Staphylococcus aureus* (koagulase-positiv) mit einem Hemmhof von 30 mm Durchmesser für Chloromycetin (erstes Antibiotogramm) isoliert wird. Nach 9tägiger Behandlung mit 2 g Chloromycetin zeigt der *Staphylococcus* noch einen Hofdurchmesser von 16 mm für Chloro-

mycetin; er ist also ein unter der Therapie in vitro resistent gewordener Keim.

Die beiden übrigen Versager der Gruppe III hatten noch gut meßbare Hemmhöfe und waren trotzdem therapieresistent.

In einem Fall handelte es sich um einen *Staphylococcus aureus* (koagulase-positiv) eines chronischen Oberschenkelabszesses bei Panmyelopathie, wobei der Hemmhof trotz Behandlung mit Tetrazyklin bei 32 mm Durchmesser blieb.

Im anderen Fall verschwand ein grampositives, diphtheri-morphes Stäbchen trotz 5tägiger Therapie mit Chloromycetin nicht aus dem Urin der 21jährigen Patientin mit einer chronischen Cystopyelitis (Hemmhof 37 mm Durchmesser).

Es finden sich in Gruppe III also nur 2 Therapieversager bei voll erhaltener bakterieller Empfindlichkeit; in 17,7% wurde der Keim unter der Therapie resistent. Es ließ sich nicht abklären, inwieweit dies durch höhere Antibioticakonzentration hätte vermieden werden können.

Von den 101 Fällen der *Gruppe II*, welche auf die Therapie nicht ansprachen (40,5%), war in 67 Fällen ein stark verkleinerter Hemmhof zu finden. Etwa die Hälfte (33 Fälle) betraf *E. coli*, während die übrigen Fälle auf die anderen Erreger gleichmäßig verteilt waren. Bei keinem der verwendeten Antibiotica war eine Häufung solcher Resistenzbildungen feststellbar. Die restlichen 34 Versager hatten in der bakteriologischen Nachkontrolle noch gut meßbare Hemmhöfe und waren doch therapieresistent. Es handelte sich um je 12 *E. coli* und *Staphylococcus aureus* (koagulase-positiv); die übrigen Erreger kamen vereinzelt vor.

Es ist also bei Infektionserregern, die im Antibio-gramm einen Hemmhof von 17–29 mm Durchmesser zeigen, mit etwa 40% Therapieresistenz zu rechnen, wobei sich in einem Drittel der Fälle eine in vitro nachweisbare Resistenz ausbildet, was zwanglos auf die ungenügende Ansprechbarkeit gegenüber den verwendeten Antibiotica zurückzuführen ist. In 19%

versagte die Therapie, obschon die Erreger in vitro empfindlich blieben. Es handelte sich ausnahmslos um Patienten mit chronischen schweren Krankheitsbildern, meist Patienten höheren Alters: chronische Emphysebronchitiden, eine Mucoviscidose, infizierte Geschwüre bei Durchblutungsstörungen und chronische Krankheiten der ableitenden Harnwege sowie Karzinome.

Nun fragt sich, ob diese Unterteilung, die sich als optimal erwies, auch für einzelne Antibiotica gültig ist. Untersucht wurden Chloramphenicol, Tetrazykline, Sulfonamide sowie die Summe aller Medikamente außer Chloramphenicol. (Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Resistenzprüfung auf Sulfonamide auf paraaminobenzoessäurefreien Nährböden gemacht wird.)

In der Gruppe I erlauben Tetrazykline eine weit bessere Voraussage (78%) als Chloramphenicol, als alle übrigen Antibiotica ohne Chloramphenicol und als Sulfonamide. Auch bei der Gruppe III, der hochempfindlichen des In-vitro-Tests, haben Chloramphenicol und Tetrazyklin eine Treffsicherheit von 80%, während Sulfonamid nur eine solche von 50% erreicht.

Die für *Escherichia coli* durchgeführten Untersuchungen zeigten dasselbe Verhalten wie die Gesamtgruppe der Bakterien.

2. Vergleich mit dem Sebas-Test

Ein Vergleich zwischen unserer neugefundenen Einteilung und derjenigen, welche die Herstellerfirma für den Sebas-Test angibt, zeigt keine Übereinstimmung (Tab. 3).

Im Sebas-Test zeigt die vollemmpfindliche Gruppe IV noch 29,8% Versager; unsere entsprechende neue Gruppe III noch 19,2%. Daß die Unterteilung in 4 Gruppen unzweckmäßig ist, kommt darin zum Ausdruck, daß die Gruppen II und III des Sebas-Tests ungefähr gleich viele Versager aufweisen: 49,3 und

Tabelle 3 Vergleich zwischen den 4 Gruppen des Sebas-Tests und den 3 neuen Gruppen

Gruppe	Hemmhöfe	B1	B3	B1: B3	%B1	%B3
<i>Sebas-Test bzw. Zahlen, die im Bürgerspital Basel verwendet wurden</i>						
I	0-12	60	82	0,73	42,3	57,7
II	13-19	35	34	1,03	50,7	49,3
III	20-23	34	27	1,26	55,7	44,3
IV	24-n	196	83	2,36	70,2	29,8
<i>Neue Gruppeneinteilung</i>						
I	0-16	74	100	0,74	42,5	57,5
II	17-29	146	101	1,44	59,1	40,9
III	30-n	105	25	4,2	80,8	19,2

B1 = Geheilte, B3 = Versager

44,3%. Die Unsicherheit über die Gruppeneinteilung zeigt sich darin, daß viele Autoren in ihnen besser scheinende «Privatgruppen» unterteilen [1, 6, 8, 17].

Als resistente Keime gelten im Sebas-Test diejenigen mit Hemmhöfen von einem Durchmesser bis zu 13 mm. Da der Vergleich der Hemmhofgrößen zwischen 13 und 16 mm mit den Therapieresultaten aber noch mehr Versager als Geheilte zeigt, ist es sinnvoll, die Hemmhofzone bis zu 16 mm Durchmesser noch als «resistent» zu werten und zur Gruppe I zu nehmen. Wird jetzt die neue mit der alten Gruppe I verglichen, so zeigt sich sozusagen kein Unterschied zwischen den zu erwartenden Versagern (57,7% und 57,5%). Die 0,2% Versager, die verloren gingen, werden wieder gewonnen als 1,6% Geheilte, die die neuen Gruppen II und III mehr zählen als die Gruppen II, III und IV zusammen im Sebas-Test. Es wird deshalb vorgeschlagen, die Einteilung des Sebas-Tests zugunsten der neuen Gruppeneinteilung zu verlassen unter der Voraussetzung, daß die von uns angewandte Technik der Resistenzprüfung innegehalten wird.

Schlußfolgerungen

Die Häufigkeit der Therapieversager und der Geheilten, sowohl nach bakteriologischen als auch nach klinischen Kriterien ermittelt, ergibt eine eindeutige Beziehung zwischen dem Durchmesser der Hemmhöfe und dem Therapieerfolg. Werden die rohen Zahlen verglichen, so überwiegt bei kleinen Hemmhöfen die Zahl der Versager diejenige der Geheilten um das 1,35fache, bei den Hemmhöfen über 30 mm Durchmesser überwiegt die Zahl der Geheilten um das 4,2fache, während in der Mittelgruppe auf 1 Versager 1,4 Geheilte fallen.

Innerhalb der Gruppe der resistenten Erreger (Hemmhof 0–16 mm) und innerhalb der Gruppe der hochempfindlichen Erreger (30-n mm) ergibt sich eine

Treffsicherheit von 90% Versagern bzw. von 98% Therapieerfolgen, wenn man diejenigen Fälle ausschließt, bei denen der Erreger während der Therapie aus einer Mischflora verschwand bzw. in vitro resistent wurde. Bezieht man diese in die Voraussage ein, so liegt die globale Trefferwahrscheinlichkeit der dritten Gruppe immer noch bei 80%.

Diese Beobachtung gilt für Sulfonamide, Tetracykline und Chloramphenicol sowie für die Erreger *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (koagulasepositiv) und für die Summen aller Erreger und aller Medikamente.

Die Versager der Resistenzprüfung – darunter sind also sowohl die rund 10% der Gruppe I als auch die rund 20% der Gruppe II und die 2% von III zu verstehen – fanden ihre klinische Erklärung: Pathophysiologische Mechanismen erlaubten keine Antibiotikawirkung; bereits vorbehandelte, für das Krankheitsgeschehen unwesentliche Erreger wurden geprüft; pharmakodynamische Eigenschaften der verwendeten Antibiotica, wie Applikationsart und Dosierung, waren ungeeignet.

Die Verteilung von Therapieerfolgen und -versagern legt eine Einteilung in drei Gruppen nahe:

Gruppe I: Hemmhofdurchmesser von 0–16 mm,

Gruppe II: Hemmhofdurchmesser von 17–29 mm,

Gruppe III: Hemmhofdurchmesser von 30–n mm.

Die Einteilung in vier Gruppen, wie sie von den Herstellern des Sebas-Tests angegeben wird, kann nicht aufrechterhalten werden.

Zusammenfassung. – Das Ergebnis bakteriologischer Resistenzprüfungen wird mit den entsprechenden Therapieresultaten in einer retrospektiven Betrachtung verglichen. Zwischen der Größe der Hemmhöfe und dem zu erwartenden Therapieerfolg bestehen bestimmte, gesetzmäßige Beziehungen. Bei der ver-

wendeten Technik fehlt bei Hemmhöfen zwischen 0 und 16 mm in 10% die Übereinstimmung der Resistenzprüfung mit dem Therapieerfolg. Bei Hemmhöfen über 30 mm ist mit einer 98%igen Wahrscheinlichkeit ein Therapieerfolg zu erwarten. In der Gruppe zwischen 17 und 29 mm beträgt die Wahrscheinlichkeit eines Therapieerfolgs 80%. Dies konnte für Sulfonamide, Tetrazyklin und Chloramphenicol sowie für die Erreger *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* (koagulase-positiv) nachgewiesen werden.

Summary. – In a retrospective study, the result of antibiotic sensitivity tests is compared with the corresponding therapeutic results. There exists a definite relation between the size of zones of inhibition and the therapeutic results to be expected. With the technique employed, the antibiotic sensitivity test and the therapeutic result fail to agree in 10% for zones of inhibition between 0 and 16 mm. For zones of inhibition over 30 mm there is a 98% probability of therapeutic success. In the group between 17 and 29 mm the probability of therapeutic success is approximately 80%. This could be proved in relation to sulfonamide drugs, tetracyclines and chloramphenicol, and the pathogens *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* (coagulase-positive).

1. ALLEMANN O.: Die Resistenzprüfung. Institut für Hygiene und Bakteriologie, Bern 1951. – 2. BAUER A. W., ROBERTS C. E. JR. und KIRBY M. W. W.: *Antibiot. Ann.* 1960, 574. – 3. «BE»: Schweiz. Apoth.-Ztg. 91, 953 (1953). – 4. BÖHNI E.: Literatur-Eildienst «Roche» 31, 6 (1963). – 5. FUCHS M.: *Méd. et Hyg. (Genève)* 20, 872 (1962). – 6. GRAF H.: *Dtsch. med. Wschr.* 86, 1476 (1961). – 7. HACKL H.: *Med. Welt* 1963, 1472. – 8. MEYER-ROHN J.: *Z. Haut- u. Geschl.-Kr.* 33, 260 (1962). – 9. MEYER-ROHN J.: *Münch. med. Wschr.* 103, 2016 (1961). – 10. PETERSDORF R. G. und FLORDE J. J.: *Ann. Rev. Med.* 14, 41 (1963). – 11. REBER H., PARIS J. und WILD F.: Untersuchungen mit dem Sulfonamid Gantanol Roche. Medizinische Universitätsklinik Basel 1962. – 12. REBER H.: Sandoz-

Panorama 1962, VII. – 13. REICH TH.: Idee und Praxis der medizinischen Statistik. H. Huber, Bern 1964. – 14. SOCHA P.: Münch. med. Wsehr. 104, 1141 (1962). – 15. SUTER L. S. und ULRICH E. W.: Antibiot. and Chemother. 9, 38 (1959). – 16. VRIES DE J. A.: Appl. Ther. 3, 356 (1961). – 17. WALTHER H.: Praxis 22, 488 (1957). – 18. WALTHER H.: Arch. klin. exp. Derm. 1957, 206. – 19. WALTHER H.: Med. Mschr. 8, 497 (1960). – 20. WILD, Dr. & Co.: Der Sebas-Test. Basel 1962.

Curriculum vitae

Am 29. November 1938 wurde ich, Hans Rudolf Greub, von Lotzwil BE und von Binningen BL, als Sohn des Hans Willi Greub und seiner Ehefrau Emma geb. Zuberbühler in Basel geboren.

Ich besuchte die Primarschule in Binningen und das Mathematisch-Naturwissenschaftliche Gymnasium in Basel bis zur Maturität.

Anschließend begann ich das Studium der Medizin an der Universität Basel und bestand nach dem ersten Semester die Ergänzungsmatura in Latein. Nach zwei klinischen Semestern an Universitätsspitalern in Paris schloß ich das Studium 1964 mit dem Staatsexamen in Basel ab.

Meine 1963 begonnene Dissertation entstand unter der Leitung von Herrn PD. Dr. H. REBER. Sich ergebende medizinisch-statistische Probleme führten zu einer engen Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Ing. G. HOYER.

Seit November 1965 arbeite ich als Assistent am Physiologisch-chemischen Institut der Universität Basel.

